

# 菲对黑麦草根系几种低分子量分泌物的影响

谢明吉, 严重玲\*, 叶菁

厦门大学生命科学学院污染生态学实验室, 福建 厦门 361005

**摘要:** 有机污染的植物修复过程与植物根系分泌密切相关, 近年来, 对于持久性有机污染多环芳烃的植物修复研究得到了很大发展, 但对于多环芳烃污染下植物根系分泌物的研究很少。该实验以多年生黑麦草 (*Lolium perenne* L.) 为供试材料, 以营养液栽培方式研究了在多环芳烃菲处理下, 黑麦草根系对几种低分子量有机物的分泌情况。研究结果显示, 黑麦草根系分泌有机酸、总糖以及氨基酸的量都随菲质量浓度的上升而变化。黑麦草根系分泌的低分子有机酸主要为草酸, 在菲处理下, 低分子有机酸的组成无明显变化, 但含量随菲质量浓度上升而提高 (由对照时的  $2.33 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$  升高至  $8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时的  $4.75 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$ ); 总糖和氨基酸含量均随菲质量浓度上升出现先升高后下降的趋势, 但是最高值出现的菲质量浓度不同, 从含量上来看, 有机酸是黑麦草根系低分子量分泌物的主要部分。结合其它研究结果分析, 植物分泌的有机酸可能在加速多环芳烃清除中发挥了重要作用。

**关键词:** 菲; 根系分泌物; 有机酸; 糖类; 氨基酸

中图分类号: X171.5

文献标识码: A

文章编号: 1672-2175 (2008) 02-0576-04

多环芳烃是一类受到广泛关注的持久性有机污染物, 由于其显著的致癌致畸变效应, 16 种多环芳烃被美国环保署列为首要的污染物。同时, 有关多环芳烃在环境中的迁移规律、多环芳烃污染的修复治理等课题吸引了众多研究者。

近几十年来, 多环芳烃的植物修复研究得到了很大的发展, 很多研究者开展了相关的工作<sup>[1-5]</sup>。已有的研究结果显示: 植物的存在能够加快土壤中多环芳烃的去除<sup>[6,7]</sup>, 但是由于多环芳烃的高疏水性, 植物直接吸收和积累作用在多环芳烃的修复中作用并不大<sup>[4,8,9]</sup>, 而根系分泌物可能在加速多环芳烃的清除中发挥了很大的作用。然而, 目前对于多环芳烃污染下植物根系分泌物的研究很少。

低分子量分泌物是植物根系分泌物的重要组成部分, 其与重金属胁迫以及营养缺乏等因素的关系已经得到了深入的研究, 但多环芳烃对根系低分子量分泌物的影响仍未见报道。因此, 本实验选取环境中广泛存在的菲作为多环芳烃的代表, 以多环芳烃修复研究中常用的黑麦草为材料研究了多环芳烃胁迫下植物根系低分子量分泌物的变化情况。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试材料

供试植物为多年生黑麦草 (*Lolium perenne* L.), 品种商品名为凤凰 (polim)

## 1.2 试验设计

### 1.2.1 黑麦草的水培试验

黑麦草种子经 3% 过氧化氢溶液消毒 20 min, 用蒸馏水冲洗干净后浸泡于烧杯中吸胀 16 h, 然后转入培养皿中催芽, 经过催芽的种子放入温室中进行育苗, 预培养 15 d 左右, 选择长势一致的植株转入烧杯中。移苗后的植株先用蒸馏水缓苗 2 d 后, 更换为半量 Hogland's 营养液, 再培养 3 d 后进行染毒处理。

### 1.2.2 水培染毒

菲 (PHE) (>97%, 购于 Aldrich Co.) 先用甲醇溶解为母液, 使用时将母液按比例加入配置好的半量 Hogland's 营养液中, 使培养液中菲的质量浓度分别为 1、2、4、8  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 同时调节培养液中甲醇的质量分数均为 0.1%, 为排除助溶剂甲醇对植物的影响, 另设只含有 0.1% 甲醇的培养液对照。配置好的培养液调节 pH 至 5.5, 并在超声波清洗仪中处理 2 h, 使液体得到充分的混匀, 处理时注意保持水浴温度低于 40 °C。每只烧杯内盛装 300 mL 培养液, 烧杯用锡纸包裹避光以防止菲的光降解。每天补充营养液维持液面高度。

### 1.2.3 根系分泌物的收集

幼苗染毒处理 6 d 后, 将幼苗由处理液中移出, 用超纯水洗去根表面吸附的物质, 同时小心去除胚乳, 注意不要伤根, 小心吸去根表面的水份, 将根浸入装有 5 mL 超纯水的小管中, 每管均放入 10 株苗, 根部避光, 置于光照培养室中

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30530150; 40673064; 30470301); 国家自然科学基金委重大国际合作研究项目 (30710103908); 福建省高校创新团队培育计划

作者简介: 谢明吉 (1980 - ), 女, 博士研究生, 主要研究方向为污染生态学。E-mail: [xmjiandan@yahoo.com.cn](mailto:xmjiandan@yahoo.com.cn)

收稿日期: 2007-11-21

收集根系分泌物, 2 h 后, 取出植株, 定容至 5 mL, 保存于冷冻室内, 尽早测定。收集完分泌物的植株在超纯水中洗净, 小心分割根部, 吸干根表的水份, 称质量, 鲜质量用于统一根系分泌物的单位。

#### 1.2.4 生物量测定

幼苗分为根部和地上部分, 105 °C 杀青 2 h 后在 60 °C 下烘至恒质量然后称量。

#### 1.2.5 有机酸分析

采用 HPLC 进行分析, 仪器为 Agilent 1100 色谱仪, 配备紫外检测器, 检测波长为 210 nm, 色谱柱为 XB-18 (5  $\mu$ m, 4.6 $\times$ 250 mm), 流动相为  $25\times 10^{-3}$  mol $\cdot$ L $^{-1}$  的  $H_3PO_4$ - $KH_2PO_4$  缓冲液, pH 为 2.3, 流速为 0.7 mL $\cdot$ min $^{-1}$ , 进样量为 20  $\mu$ L, 柱温 30 °C, 有机酸的确定采用外标法, 含量的计算采用峰面积法。

#### 1.2.6 总糖分析

根系分泌物中总糖含量采用蒽酮比色法<sup>[10]</sup>

#### 1.2.7 氨基酸分析

根系分泌物氨基酸含量采用酸性茚三酮法<sup>[11]</sup>。

#### 1.2.8 数据处理

每组处理设三个重复, 数据用 SPSS 软件进行分析, 处理组间的差异显著性采用 LSD 法进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 菲对黑麦草生物量的影响

黑麦草在经过 6 d 的菲胁迫处理后, 除了生物量略有变化, 无其他表观受害症状, 显示出较强的耐受能力。根和地上部分生物量随菲质量浓度升高而变化的趋势相同, 均表现为先升高后降低的趋势 (图 1): 在 1 mg $\cdot$ L $^{-1}$  菲处理下, 黑麦草根和地上部分的干质量均达到最大, 而后随着菲质量浓度升高而降低, 但即使在最高质量浓度 (8 mg $\cdot$ L $^{-1}$ ) 下, 黑麦草的生物量与对照组也无显著差异 ( $p>0.05$ )。

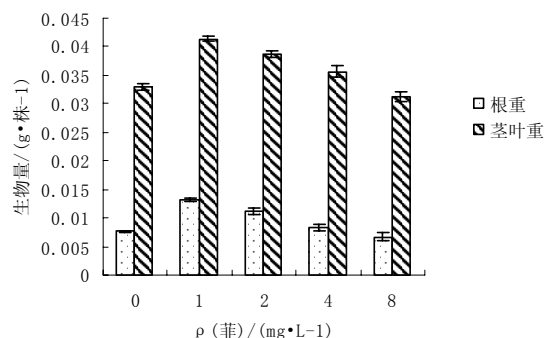


图 1 菲对黑麦草生物量的影响

Fig. 1 the biomass of ryegrass by PHE treatments

### 2.2 菲对黑麦草根系分泌有机酸的影响

#### 2.2.1 HPLC 法分离测定根系分泌物中的有机酸

HPLC 法用于测定根系分泌物中有机酸的方法已多有报道, 但使用不同方法及仪器对实验结果的影响较大。实验结果表明, 本实验中所采用的条件能很好的对根系分泌物中的有机酸进行定型定量分析。

#### 2.2.2 黑麦草根系分泌的有机酸

在黑麦草的根系分泌物中发现了草酸、乳酸、苹果酸和乙酸 (图 2); 其中, 草酸的质量分数最高,

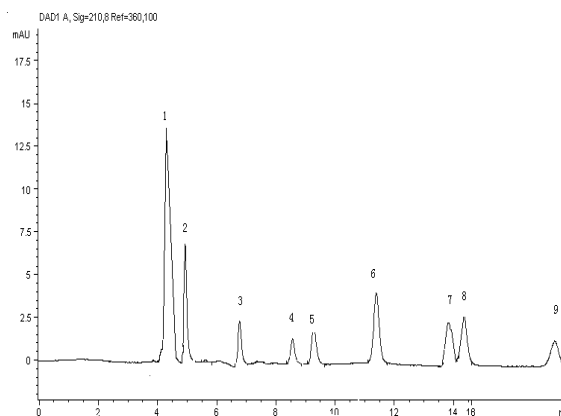


图 2 有机酸混合标样的 HPLC 图谱

Fig. 2 the mixed organic acids analyzed by HPLC

(1: 草酸 oxalic acid; 2: 酒石酸 tartaric acid; 3: 苹果酸 malic acid; 4: 乳酸 lactic acid; 5: 乙酸 acetic acid; 6: 顺丁烯二酸 maleic acid; 7: 柠檬酸 citric acid; 8: 反丁烯二酸 fumaric acid; 9: 丁二酸 succinic acid)

超过了总酸的 98%, 是黑麦草根系分泌的低分子量有机酸的主要成分, 这个结果与徐卫红等<sup>[12]</sup>的研究结果一致。并且在各质量浓度菲处理下, 根分泌有机酸的组成基本不变, 因此在本实验中, 以草酸作为根系分泌有机酸的代表。

如图 3 所示, 在各个质量浓度菲处理下, 黑

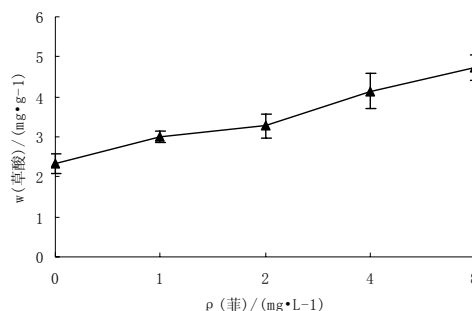


图 3 菲处理下黑麦草根系分泌草酸量

Fig. 3 the oxalic acid excreted by ryegrass root under PHE stress

注: 相同字母标注表示组间差异不显著 ( $p>0.05$ ), 不同字母标注表示组间存在显著差异 ( $p<0.05$ ), 以下皆同

麦草根分泌的草酸量都比对照有显著增加 ( $p < 0.05$ ), 而且, 随着菲质量浓度的升高, 分泌草酸的量呈现上升的趋势, 从  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  菲处理时的  $3.00 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  (鲜质量) 升高至  $4.75 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  (鲜质量), 差异显著 ( $p < 0.05$ )

### 2.3 黑麦草根分泌的总糖

如图4中所示, 黑麦草根分泌物中总糖含量呈现与有机酸不同的变化趋势: 总糖在  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  菲处理下达到最大, 而后开始下降。在  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  菲处理下, 总糖分泌显著高于对照 ( $p < 0.05$ ), 菲质量浓度升至  $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 总糖质量分数虽有下降, 仍高于对照, 但其与对照间差异不显著 ( $p > 0.05$ ); 当菲质量浓度  $\geq 4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 根系分泌物中总糖质量分数比对照略低, 但差异不显著 ( $p > 0.05$ )

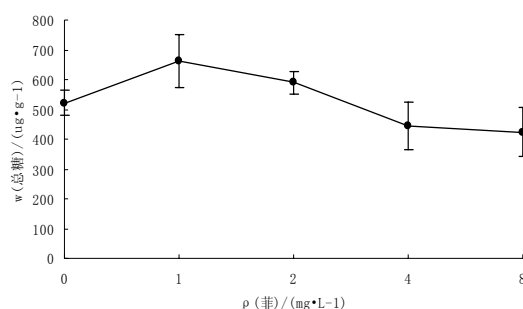


图4 菲处理下黑麦草根分泌物中的总糖

Fig. 4 the carbohydrate in root exudates under PHE stress

### 2.4 黑麦草根分泌的氨基酸

由图5可以发现, 在不同质量浓度菲处理下, 黑麦草根分泌的氨基酸质量分数变化与总糖的变化趋势类似, 均表现为先升高后下降; 不同在于, 氨基酸分泌的最高值出现在  $4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  菲处理下。在  $2, 4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  菲质量浓度下, 氨基酸的分泌显著高于对照组 ( $p < 0.05$ ), 菲质量浓度升高至  $8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 氨基酸分泌量显著下降。

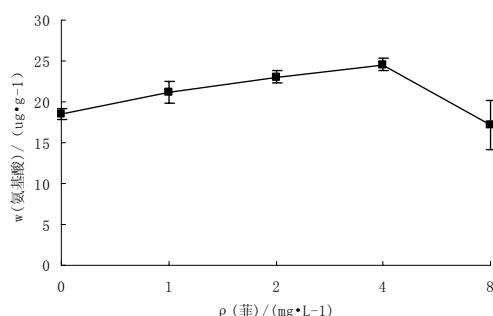


图5 菲处理下黑麦草根分泌物中的氨基酸

Fig. 5 the amino acids in root exudates under PHE stress

$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 氨基酸分泌虽较对照有所下降, 但差异不显著 ( $p > 0.05$ )

### 3 讨论

低分子量分泌物 (包括有机酸、糖类以及氨基酸) 是植物根系分泌物中的重要部分, 它为根际微生物提供了大量容易被利用的有机碳。本实验中, 在一定浓度范围内, 多环芳烃可以促进黑麦草根分泌低分子量分泌物 (有机酸、糖类及氨基酸) 的分泌, 这与万大娟等人<sup>[13]</sup>关于多氯代有机污染物的研究一致。

传统观点认为, 根系分泌物可以通过两种途径来加速有机污染物的清除: (1) 根系分泌的酶直接降解有机污染物; (2) 根系分泌物能增加根际微生物的数量、提高微生物降解活性从而加速有机污染物的降解。这两种途径都已经为研究者所证实<sup>[14]</sup>。近几年的研究表明, 植物根系分泌物还可以改变土壤特性、提高有机污染物的生物有效性, 从而加快有机污染物的清除<sup>[15]</sup>。

有机污染物特殊的物理化学特性决定了在土壤中, 有机污染物主要结合在土壤有机质上, 有机物的转移和生物有效性很大程度上受土壤有机质含量和形态的影响<sup>[16]</sup>, Nardi 等人<sup>[17]</sup>的研究结果表明, 植物根系分泌的有机酸能够活化土壤中的有机质; White<sup>[18]</sup>通过外加有机酸证明: 低分子量有机酸能够通过螯合无机离子来部分瓦解土壤结构, 从而提高有机污染物的生物有效性; LUO 等人<sup>[19]</sup>也证实植物根系分泌物以及草酸盐都可以促进 DDT 从土壤的解吸附。从本实验的数据看来, 有机酸是黑麦草低分子量分泌物的主要部分, 由此可以推测, 黑麦草根分泌物的变化不但对根际微生物产生影响, 而且对土壤中有机污染物的吸附-解吸附平衡也具有重要意义。

### 4 结论

(1) 溶液培养黑麦草发现, 黑麦草对菲具有一定的耐受能力, 在  $8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度处理下仍生长良好

(2) 有机酸是黑麦草分泌的主要低分子量有机物。菲处理下, 黑麦草根有机酸的分泌总量随处理浓度升高而显著上升, 但有机酸组成无明显变化

(3) 菲处理下, 黑麦草根总糖分泌量呈现先上升后下降的趋势, 氨基酸分泌变化趋势与之类似

### 参考文献:

- [1] WILSON S C, JONES K C. Bioremediation of soil contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs): A review[J]. Environmental Pollution, 1993, 81(3): 229-249.

- [2] APRIL W S, SIMS R C. Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil[J]. Chemosphere, 1990, 20(1-2): 253-265.
- [3] JONER E J, LEYVAL C. Rhizosphere gradients of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) dissipation in two industrial soils and the impact of arbuscular mycorrhiza[J]. Environmental Science & Technology, 2003, 37(11): 2371-2375.
- [4] GAO Yanzheng, ZHU Lizhong. Plant uptake, accumulation and translocation of phenanthrene and pyrene in soils[J]. Chemosphere, 2004, 55(9): 1169-1178.
- [5] GAO Yanzheng, LING Wanting, Wong Ming H. Plant-accelerated dissipation of phenanthrene and pyrene from water in the presence of a nonionic-surfactant[J]. Chemosphere, 2006, 63(9): 1560-1567.
- [6] REILLEY K A, BANKS M K, SCHWAB A P. Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere[J]. Journal of Environmental Quality, 1996, 25(2): 212-219.
- [7] BINET P, PORTAL J M, LEYVAL C. Dissipation of 3-6-ring polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere of ryegrass[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2000, 32(14): 2011-2017.
- [8] WILD S R, JONES K C. Organic chemicals entering agricultural soils in sewage sludges: screening for their potential to transfer to crop plants and livestock[J]. Science of the Total Environment, 1992, 119: 85-119.
- [9] SIMONICH S L, HITES R A. Organic pollutant accumulation in vegetation[J]. Environmental Science & Technology, 1995, 29(12): 2905-2914.
- [10] 熊庆娥. 植物生理学实验指导[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 2003.
- Xiong Qing'e. The Experimental Guide for Plant Physiology[M]. Chengdu: Sichuan Science and Technology Press, 2003.
- [11] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- LI Hesheng. Experimental principle and technology of plant physiology[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000.
- [12] XU Weihong, LIU Huai, MA Qifu, et al. Root exudates, rhizosphere Zn fractions, and Zn accumulation of ryegrass at different soil Zn levels[J]. Pedosphere, 2007, 17(3): 389-396.
- [13] 王大娟, 贾晓珊, 陈娴. 多氯代有机污染物胁迫下植物某些根系分泌物的变化[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2007, 46(1): 110-113.
- Wan Dajuan, Jia Xiaoshan, Chen Xian. Effects of PCOPs on some root exudates of plants[J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 2007, 46(1): 110-113.
- [14] 旷远文, 温达志, 钟传文, 等. 根系分泌物及其在植物修复中的作用[J]. 植物生态学报, 2003, 27(5): 709-717.
- Kuang Yuanwen, Wen Dazhi, Zhong Chuanwen, et al. Root exudates and their roles in phytoremediation[J]. Acta Phytocologica Sinica, 2003, 27(5): 709-717.
- [15] SINGH O V, JAIN R K. Phytoremediation of toxic aromatic pollutants from soil[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2003, 63(2): 128-135.
- [16] CONTE P, ZENA A, PILIDIS G, et al. Increased retention of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils induced by soil treatment with humic substances[J]. Environmental Pollution, 2001, 112(1): 27-31.
- [17] NARDI S, RENIERO F, CONCHERI G. Soil organic matter mobilization by root exudates of three maize hybrids[J]. Chemosphere, 1997, 35(10): 2237-2244.
- [18] WHITE J C. Differential bioavailability of field-weathered p,p'-DDE to plants of the *Cucurbita* and *Cucumis* genera[J]. Chemosphere, 2002, 49(20): 143-152.
- [19] LUO Lei, ZHANG Shuzhen, SHAN Xiaoquan, et al. Oxalate and root exudates enhance the desorption of p,p'-DDT from soils[J]. Chemosphere, 2006, 63(8): 1273-1279.

## Effect of phenanthrene on the secretion of low molecule weight organic compounds by ryegrass root

Xie Mingji, Yan Chongling, Ye Jing

Laboratory of Pollution Ecology, School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China

**Abstract:** The phytoremediation of organic pollutants is closely related to root secretion. In recent years, there are large numbers of researches concerned about phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons; however, few of them are about the root secretion under polycyclic aromatic hydrocarbons stress. In this research, a solution culture experiment was performed to investigate the impact of phenanthrene on several low molecular weight organic components in ryegrass (*Lolium perenne* L.) root exudates. Data showed that, organic acids, total carbohydrate and amino acids all changed in quantity under phenanthrene stress. Oxalic acid was the main composition of organic acid in root exudates, and its content increased with the phenanthrene concentration rising (range from 2.33 to 4.75 mg·g<sup>-1</sup> FW); total carbohydrate and amino acids in root exudates showed similar change trend, at relatively low phenanthrene concentrations their quantities raised and at relatively high treatments, their quantities reduced. As a whole, organic acids were the main part of low molecular weight organic component in ryegrass root exudates, and combining with other researches, we suggested that the increased organic acids secretion may also play an important role in polycyclic aromatic hydrocarbons phytoremediation.

**Key words:** phenanthrene; root exudates; organic acids; carbohydrate; amino acids